

Aspectos biológicos das principais amebas de vida-livre de importância médica

Paulo Henrique Matayoshi Calixto¹, Fábio Rodrigues Trindade¹, Arnaldo José Ballarini¹, Cláudio Alberto Gellis de Mattos Dias², Carlos Eduardo Costa Campos³, Júlio César Sá de Oliveira³

1. Professor do Curso de Enfermagem, Campus Binacional Oiapoque, Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: matayoshi@unifap.br; fabiotrindade@unifap.br; ballarini@unifap.br

2. Professor do Curso de Ciências Biológicas, Campus Binacional Oiapoque, Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: claudiodias@unifap.br

3. Professor do Curso de Ciências Biológicas, Campus Marco Zero do Equador, Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: eduardocampos@unifap.br; juliosa@unifap.br

RESUMO: O objetivo desta revisão é de compilar informações sobre os principais aspectos das amebas de vida-livre (AVL). Para tal, foram consultados artigos depositados no PubMed, entre os anos de 1947 a 2014. As AVL são protozoários amplamente distribuídos no ambiente. Apesar de não serem considerados parasitos clássicos, tais como o *Trypanosoma cruzi*, as AVL são responsáveis por infecções oportunistas e não oportunistas em seres humanos e animais. Entre todas as AVL, apenas três gêneros são conhecidamente capazes de infectar o homem e outros animais, são eles *Balamuthia*, *Naegleria* e *Acanthamoeba*. Felizmente, as infecções por AVL são extremamente raras. Espécies desses gêneros são responsáveis por infecções fatais, tais como: i) *Acanthamoeba* causa a encefalite amebiana granulomatosa (EAG), além de causar ceratites e infecções de pele, rins e pulmões; ii) *Balamuthia mandrillaris* também provoca o mesmo tipo de encefalite; iii) *Naegleria fowleri* é o agente etiológico da meningoencefalite amebiana primária (MAP).

Palavras-chave: Amebas de vida-livre, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp., encefalite amebiana.

Biological aspects of the major free-living amoebae of medical importance

ABSTRACT: The goal of this review is to compile information on the main aspects of free-living amoebae (FLA). For such articles deposited in PubMed, between the years 1947 to 2014 were consulted. FLA are protozoa widely distributed in the environment. Although not considered classic parasites, such as *Trypanosoma cruzi*, the FLA are responsible for opportunistic and non-opportunistic infections in humans and animals. Among all FLA, only three genera are able to infect humans and other animals, they are *Balamuthia*, *Naegleria*, and *Acanthamoeba*. Fortunately, FLA infections are extremely rare. Species of these genera are responsible for fatal infections, such as: i) *Acanthamoeba* causes granulomatous amoebic encephalitis (GAE), in addition to causes keratitis skin, lung, and kidney infections ii) *Balamuthia* causes encephalitis infections similar to GAE; iii) *Naegleria fowleri* is the etiologic agent of primary amoebic meningoencephalitis (PAM).

Keywords: Free-living amoebae; *Balamuthia mandrillaris*; *Naegleria fowleri*; *Acanthamoeba* spp.; amoebic encephalitis.

1. Introdução

As amebas de vida-livre (AVL) são protozoários de vida-livre amplamente distribuídos na natureza. Esses protozoários são muitas vezes referidos como anfitriões, devido sua habilidade de viver livremente sem hospedeiros, mas apresentam a capacidade de invadir um hospedeiro e viver como parasitos (SHUSTER; VISVESVARA, 2004). As AVL podem ser encontradas no solo, poeira, ar, soluções de lentes de contato e ambientes aquáticos tais como rios, lagos, piscinas e água potável (DENDENA et al., 2008; TRABELSI et al., 2010). Os seres humanos estão continuamente expostos às AVL devido sua ampla distribuição no ambiente. A maioria das AVL pode ser encontrada livremente no ambiente aquático (HOFFMANN; MICHEL, 2001). No entanto, foi demonstrado que as AVL podem colonizar superfícies, através de substâncias de adesão e outros metabólitos secretados, conduzindo à criação de biofilmes (HALLAM et al., 2001).

Entre as AVL, apenas os gêneros *Acanthamoeba*, *Naegleria* e *Balamuthia* são responsáveis por infecções

oportunistas e não oportunistas em humanos e outros animais (SHUSTER; VISVESVARA, 2004; VISVESVARA; MAGUIRE, 2006). Os gêneros *Acanthamoeba* e *Naegleria* tem ampla distribuição na água e no solo e podem ser facilmente isolados a partir dessas fontes. Amebas do gênero *Balamuthia*, até o momento, foram isoladas apenas em amostras de solo e poeira e, desse modo, presume-se que estejam amplamente distribuídas na natureza (VISVESVARA et al., 2007). O gênero *Acanthamoeba* está associado com doenças humanas e podem causar encefalite amebiana granulomatosa (EAG), lesões cutâneas, infecções renais, pulmonares e da nasofaringe em indivíduos imunocomprometidos. Em indivíduos imunocompetentes a *Acanthamoeba* pode causar ceratites (AICHELBURG et al., 2008; ARANCE-GIL et al., 2013). A *Balamuthia mandrillaris*, uma AVL relativamente próxima da *Acanthamoeba*, é responsável por causar uma forma fatal de EAG, especialmente em crianças imunocompetentes. Ademais, a *B. mandrillaris* pode causar infecções de pele e pulmão (LOBO et al., 2013).

Outra espécie de AVL, a *Naegleria fowleri*, causa a meningoencefalite amebiana primária (MAP) de maneira não oportunista em crianças e adultos jovens saudáveis (MOVAHEDI et al., 2012). Ademais, as AVL podem funcionar como carreadoras de bactérias patogênicas tais como espécies dos gêneros *Legionella*, *Vibrio* e *Listeria* (LY; MÜLLER, 1990; THOM et al., 1992; SWANSON; HAMMER, 2000).

A distinção de um protozoário em de vida-livre ou parasitário é acentuada, pois cada protozoário se encaixa prontamente em uma das duas categorias. Contudo, em alguns casos os protozoários de vida-livre podem atravessar a linha que separa as duas categorias e serem tão destrutivos quanto os protozoários parasitários clássicos. Diferente dos protozoários parasitários, os protozoários de vida-livre, como as AVL, não são adaptados ao parasitismo. Além disso, esses são amplamente distribuídos no ambiente e não dependem de hospedeiros para sua transmissão ou disseminação (VISVESVARA et al., 2007). Diante desse panorama, o objeto deste trabalho é compilar as principais informações sobre as AVL disponíveis no PubMed.

2. Materiais e Métodos

Para esta revisão foram consultados trabalhos experimentais e de revisão depositados no PubMed entre os anos de 1947 e 2014.

3. *Acanthamoeba* spp.

Aspectos Biológicos

A *Acanthamoeba* é a ameba mais comumente encontrada e distribuída na natureza. Trata-se de um protozoário anfizóico, oportunista e pode ser encontrado no solo, ar e água (PAGE, 1988). Pode sobreviver em diferentes ambientes como, água salobra, água doce e do mar, esgoto, prato de vasos, ambientes hospitalares, unidades dentária e de diálise, solução de lentes de contato, entre outros (SHUSTER; VISVESVARA, 2004). Ademais, a *Acanthamoeba* também foi isolada em outros seres vivos, tais como vegetais, peixes, répteis, anfíbios, cães, macacos e pássaros (VISVESVARA et al., 2007). Essa ameba pode tolerar uma ampla variedade de condições, como de osmolaridade, temperatura, salinidade e pH, o que permite sua sobrevivência em água destilada, cultura de células, fluidos corporais e temperaturas superiores a 37 °C. As espécies de *Acanthamoeba* envolvidas na infecção humana são: *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. hatchetti*, *A. healyi*, *A. astroonyxix*, *A. divionensis* e *A. polyphaga*. Outras espécies de *Acanthamoeba*, que apesar de serem termo-tolerantes, não são patogênicas (CASTRILLÓN; OROZCO, 2013).

A *Acanthamoeba* apresenta dois estágios durante o ciclo de vida (Figura 1): um vegetativo, caracterizado pela forma de trofozoíto (8 – 40 µm) e um estágio

dormiente, cuja forma evolutiva compreende o cisto (8 – 29 µm). A morfologia do trofozoíto é caracterizada pela presença de um único núcleo e de pequenas projeções em direção contrária ao corpo, comumente conhecidas como acantopodia. Os acantopodias permitem ao protozoário adesão à superfícies e a realização de movimentos celulares. Os trofozoítos se alimentam de bactérias, algas, fungos e pequenas partículas orgânicas, enquanto que sua replicação ocorre por fissão binária (KHAN, 2006). A forma trofozoíta é considerada a forma infectante e invasiva da *Acanthamoeba*. Contudo, os trofozoítos não conseguem sobreviver por longos períodos de tempo em ambientes com condição adversa, a exemplo da falta de alimento, temperatura e pH extremos e soluções de hiper- ou hiposmolaridade. O trofozoíto, por sua vez, se diferencia em cisto, uma forma de resistência composta por duas paredes denominadas endo- e ectocisto. Esta forma de resistência possui poros, que são usados para monitorar as condições do ambiente – caso as condições sejam favoráveis, o cisto se diferencia novamente em trofozoíto. O cisto, portanto, está protegido da dessecação, privação de alimentos, bem como, de uma variedade de agentes químicos e físicos (AKZOZEK et al., 2002). A resistência do cisto é tão grande, que pesquisadores apontam que essa forma evolutiva é capaz de sobreviver *in vitro* por períodos superiores a 20 anos. Com o retorno das condições favoráveis ao crescimento, os cistos germinam para dar novamente origem aos trofozoítos (MAZUR et al., 1995).

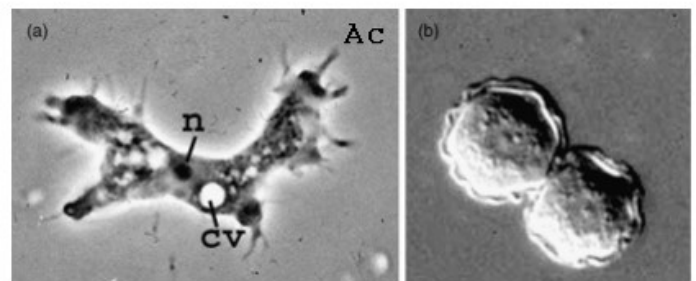


Figura 1. Microfotografia óptica de trofozoítos (a) e cistos (b) de *Acanthamoeba*. As letras “n”, “cv” e “Ac”, representam o núcleo, vacúolo contrátil e acantopodia, respectivamente. Aumento de 1 000 X. Figura reproduzida de Visvesvara et al., 2007.

Doença Humana

Várias espécies de *Acanthamoeba* podem causar EAG e a acantamebíase cutânea e da nasofaringe em indivíduos imunocomprometidos. Além disso, espécies do *Acanthamoeba* spp. podem causar ceratites, especialmente em usuários de lentes de contato. Contudo, se considerarmos as inúmeras oportunidades de contato com a *Acanthamoeba*, a infecção de homens e animais por essa ameba é raramente encontrada (VISVESVARA et al., 2007). Foi demonstrado que aproximadamente 80% da população humana sadia apresenta anticorpos anti-*Acanthamoeba*. Dessa forma, a patogenicidade é resultante de vários processos que

ocorrem durante a infecção e depende, principalmente, da capacidade de adesão da ameba à mucosa e da migração tissular (CHAPPEL et al., 2001).

Encefalite amebiana granulomatosa (EAG)

A EAG é uma condição relativamente rara. Até o momento, aproximadamente 150 casos foram descritos em todo o mundo, destes menos de 10 indivíduos sobreviveram. Contudo, devido à dificuldade de reconhecimento da EAG, é possível que mais casos tenham ocorrido, mas não foram diagnosticados (BARETE et al., 2007). A EAG é uma doença oportunista e fatal, que afeta hospedeiros imunocomprometidos ou debilitados, como é o caso dos indivíduos HIV/AIDS, diabéticos não compensados e pessoas transplantadas. Contudo, a EAG já foi descrita em indivíduos imunocompetentes (VISVESVARA et al., 2007).

As vias de entrada da *Acanthamoeba* incluem o trato respiratório baixo e lesões na pele acompanhada de disseminação hematogênica. A *Acanthamoeba* acessa o sistema nervoso central (SNC) através da barreira hemato-encefálica, particularmente através do revestimento endotelial dos capilares cerebrais (MARTINEZ, 1991). As lesões são frequentemente observadas nos gânglios basais, mesencéfalo, tronco cerebral e hemisférios cerebrais com lesões características no parênquima do SNC, resultando em encefalite granulomatosa crônica. Os achados microscópicos *post-mortem* revelaram a presença de cistos e trofozoítos, majoritariamente nos espaços perivascular no parênquima cerebral. Comumente é observada uma fase necrótica, causada ativamente pelo trofozoíto durante o processo de alimentação da ameba ou pelos processos inflamatórios (KHAN, 2006).

O início da EAG é lento e geralmente é reconhecido por manifestações neurológicas e alterações comportamentais. Outros sintomas incluem convulsões, dor de cabeça, distúrbios visuais, rigidez do pescoço, anormalidades do estado mental, náuseas, vômitos, febre baixa, letargia, ataxia cerebelar, hemiparesia, convulsões e coma (BLOCH; SCHUSTER, 2005).

Ceratite Amebiana

A ceratite amebiana é a infecção da córnea por espécies do gênero *Acanthamoeba* e ocorre basicamente em indivíduos imunocompetentes. Os principais fatores de risco são: i) uso prolongado de lentes de contato; ii) traumas ou injúrias na córnea; iii) soluções não-estéreis para manutenção de lentes de contato; iv) prática de natação em águas contaminadas. Tipicamente, apenas um dos olhos é afetado, mas a ceratite bilateral também já foi relatada. A transmissão da *Acanthamoeba* depende dos fatores de virulência da ameba e do estado fisiológico da córnea. De fato, aproximadamente 85% dos pacientes com ceratite apresentaram algum tipo de lesão abrasiva na córnea, sendo esse tipo de lesão comum aos usuários de lentes

de contato (SZENTMÁRY et al., 2013; ROSS et al., 2014).

Os sinais clínicos apresentados nos estágios iniciais e que são sugestivos de ceratite amebiana são a presença de lesões epiteliais e o surgimento de áreas opacas focais ou difusas. Quando a *Acanthamoeba* conduz ao edema, ocorre a formação de um abscesso característico em forma de anel e resulta da ação de macrófagos presentes na área afetada (Figura 2) (PATEL; MCGHEE, 2009; DART et al., 2009). Sinais e sintomas podem durar semanas ou meses e incluem: i) sensação de corpo estranho no olho; ii) dor ocular intensa; iii) vermelhidão nos olhos; iv) visão turva; v) lacrimejamento. Além disso, após a instalação da ceratite, uma infecção microbiana secundária pode ocorrer (CLARKE; NIEDERKORN, 2006). Caso a infecção por *Acanthamoeba* atinja o estroma da córnea, poderá haver comprometimento permanente da visão (LORENZO-MORALES et al., 2011).



Figura 2. Ceratite provocada por *Acanthamoeba*. Lesão característica em forma de halo. Figura reproduzida de Srinivasan et al., 2008.

4. *Naegleria fowleri*

Aspectos biológicos

O gênero *Naegleria* é composto por mais de 40 espécies. No entanto, apenas uma espécie, a *Naegleria fowleri*, é capaz de infectar seres humanos. Também é conhecida como ameba-flagelado, pois apresenta uma fase no ciclo biológico em que a *Naegleria* se diferencia em uma forma flagelada, estágio este em que o protozoário não se divide e nem se alimenta (VISVESVARA; MAGUIRE, 2006). O ciclo biológico da *Naegleria* é relativamente simples e compreende três estágios, cisto, trofozoíto ameboide e trofozoíto flagelado (Figura 3). Em condições adversas, tais como baixas temperaturas, a ameba se diferencia em cistos esféricos medindo entre 7 e 14 μm . Neste estágio, o único núcleo da ameba é protegido por um citoplasma extremamente granuloso envolvido por uma densa parede celular. Normalmente, a parede do cisto apresenta dois poros que estão preenchidos com muco até a indução do estágio de trofozoíto. Quando ocorrem mudanças no ambiente, o cisto é ativado, se rompe e dá origem ao trofozoíto ameboide que se

ameboide que se divide por fissão binária. Embora a infecção humana possa ser causada por cistos presentes na poeira, o trofozoíto ameboide é a principal forma infectante, além de ser a única forma replicativa. O trofozoíto ameboide mede entre 10 e 30 μm de comprimento, o núcleo é escuro e central ao corpo celular e se locomove por lentos movimentos ameboides. Alternativamente, mas não em todas as cepas de *Naegleria*, o trofozoíto ameboide pode se diferenciar em trofozoíto flagelado, cuja forma evolutiva não se divide. O trofozoíto flagelado compartilha com o trofozoíto ameboide as mesmas dimensões e localização do núcleo. Contudo, apresenta dois flagelos e se locomove de forma rápida e ativa. A diferenciação de trofozoíto ameboide em flagelado é facilmente induzida em laboratório através da lavagem da ameba com água destilada. A forma flagelar é um estágio transitório e a ameba rapidamente volta à forma ameboide. Uma vez que o trofozoíto se encontra em ambientes de condições adversas, a ameba novamente se diferencia em sua forma de resistência, o cisto (FERRANTE, 1991; VISVESVARA; MAGUIRE, 2006; ZAHEER, 2013).

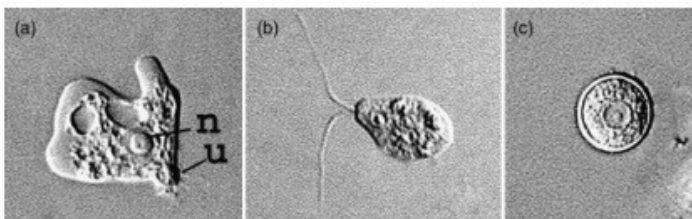


Figura 3. Microfotografia óptica de trofozoíto ameboide (a), trofozoíto flagelado (b) e cisto (c) de *Naegleria fowleri*. As letras “n” e “u” representam o núcleo e a extremidade uróide, respectivamente. Aumento de 1000 X. Figura reproduzida de Visvesvara et al., 2007.

Embora seja amplamente distribuída na água e no solo, a *N. fowleri* não é tão comum quanto a *Acanthamoeba*. A *N. fowleri* está presente em todo o mundo e tem sido isolada a partir de água fresca e quente, lagos, córregos, piscinas aquecidas sem cloração, piscinas de hidroterapia, aquários, esgotos e, até mesmo, em vias áreas superiores de indivíduos saudáveis. Esta ameba não pode ser recuperada a partir de água salgada, sugerindo sensibilidade à elevada osmolaridade (SHUSTER; VISVESVARA, 2004; MAGNET et al., 2013).

Meningoencefalite amebiana primária

A *N. fowleri* causa a meningoencefalite amebiana primária (MAP), uma infecção aguda, hemorrágica e fulminante. A MAP se inicia de maneira abrupta em crianças e adultos jovens saudáveis com histórico de contato com água de rios, lagos ou piscinas antes do início dos sintomas. Durante o contato com a água, a *N. fowleri* é aspirada para dentro das passagens nasais e, após se aderirem à mucosa nasal, a ameba migra para o cérebro por meio do nervo olfativo, resultando em

grandes danos no lobo frontal (GUPTA et al., 2009). A primeira descrição de MAP foi feita na Austrália no início da segunda metade dos anos 1960 (FOWLER; CARTER, 1965). A característica de assinatura da MAP é o rápido aparecimento dos sintomas, que ocorre em menos de 24 horas após o contato com ameba. A MAP progride rapidamente e a morte ocorre entre 7 e 10 dias após o início dos sintomas. Com exceção de poucos casos descritos na literatura, todos os casos de MAP são fatais (FUKUMA, 2009). A patogênese da MAP ainda não está totalmente esclarecida, mas sabe-se que as seguintes proteínas da ameba estão envolvidas no curso da infecção, são elas: i) fosfolipase A e B, apresenta atividade citolítica, resultando na destruição da membrana plasmática (BARBOUR; MARCIANO-CABRAL, 2001); ii) neuraminidase, que conduz à destruição tecidual (EISEN; FRANSON, 1987); iii) presença de proteínas perforinas-like, que possuem capacidade lítica sobre as células-alvo (FRITZINGER et al., 2006); iv) liberação de proteínas que induzem o mecanismo de apoptose em células do hospedeiro (LEE et al., 2011).

5. Balamuthia spp.

Biologia

Balamuthia mandrillaris é a única espécie do gênero *Balamuthia* conhecida por causar infecções em humanos e animais. É responsável por infecções cutâneas graves, bem como, por encefalites que, na maioria das vezes, é fatal (TRABELSI et al., 2012).

Diferentemente da *Acanthamoeba*, que é amplamente distribuída no ambiente, a *B. mandrillaris* está presente apenas no solo, sendo de difícil isolamento e cultivo (MATIN et al., 2008). A *B. mandrillaris* não pode ser cultivada em ágar suplementado com bactérias Gram-negativas, como as demais AVL, devido ao fato dessa ameba não se alimentar de bactérias. Contudo, o crescimento *in vitro* da *B. mandrillaris* requer o uso de células de cultura como fonte de alimento (TRABELSI et al., 2012).

B. mandrillaris, assim como a *Acanthamoeba*, apresenta apenas dois estágios em seu ciclo biológico, cisto e trofozoíto (Figura 4). O trofozoíto é pleomórfico e mede de 12 a 60 μm , com média de 30 μm . Normalmente o trofozoíto apresenta apenas um núcleo. Contudo, formas binucleadas podem ocorrer. Quando as condições do meio se tornam adversas, o trofozoíto se diferencia em sua forma de resistência, o cisto. Os cistos são esféricos e medem entre 12 a 30 μm de diâmetro, com média de 15 μm . Apresentam uma parede celular extremamente resistente, formada por três camadas e não possuem poros. Ademais, os cistos são tripartidos: ectocisto (localizado na periferia do cisto); endocisto (localizado na porção mais interior) e mesocisto (localizado na porção média) (SHUSTER; VISVESVARA, 2004; VISVESVARA et al., 2007; TRABELSI et al., 2012).



Figura 3. Microfotografia óptica de trofozoíto ameboide (a), trofozoíto flagelado (b) e cisto (c) de *Naegleria fowleri*. As letras “n” e “u” representam o núcleo e a extremidade uróide, respectivamente. Aumento de 1000 X. Figura reproduzida de Visvesvara et al., 2007.

Encefalite causada por *Balamuthia mandrillaris*

Existe grande semelhança entre a encefalite provocada por *Acanthamoeba* e *B. mandrillaris*. Contudo, indivíduos saudáveis, especialmente crianças e idosos, têm sido relatados com encefalite causada por *B. mandrillaris* (EB) (VISVESVARA et al., 2007). A EB também já foi relatada em animais, tais como cavalos, ovelhas e cães (SHUSTER; VISVESVARA, 2004).

Lesões na pele são consideradas portas de entrada para a *B. mandrillaris*, através do contato com o solo contaminado. A contaminação também pode ocorrer por cistos transportados pelo ar até o trato respiratório. A *B. mandrillaris* possui um tropismo acentuado pelo cérebro e é altamente citopática, resultando em extenso dano cerebral (BAKARDJIEV et al., 2003). Estudos indicam que a *B. mandrillaris* induz as células do endotélio microvascular do cérebro a produzirem interleucina 6 (IL-6), uma citocina pró-inflamatória (JAYASEKERA et al., 2005). Ademais, a *B. mandrillaris* promove a degradação da matriz extracelular através da ação de uma metaloprotease (MATIN et al., 2006). O perfil da doença é semelhante ao apresentado pela *Acanthamoeba*. A infecção é crônica e o tempo entre o surgimento das lesões de pele até os sintomas neurológicos pode variar de um mês a até dois anos. Os sintomas da infecção cerebral incluem cefaléia, fotofobia, febre, mudanças de personalidade, ataxia cerebelar, hemiparesia, afasia e convulsões. A *B. mandrillaris* pode se disseminar para outros órgãos como rins, adrenais, pâncreas, tireóide e pulmões (VISVESVARA et al., 2007).

6. Considerações finais

As AVL são ubíquas e estão presentes em quase todo o mundo. Contudo, são microrganismos pouco estudados e, na maioria das vezes, desconhecidos ou desvalorizados por pesquisadores e pelas equipes de saúde. As AVL são responsáveis por casos fatais de encefalite que, na maioria das vezes, são de difícil diagnóstico. Felizmente, essas infecções são extremamente raras.

Mesmo contanto com poucos casos relatados, a pesquisa e a divulgação das AVL são de extrema importância. O estudo clínico e biológico das AVL promoverá um melhor entendimento sobre os mecanismos

de patogênese da infecção, além de facilitar o diagnóstico e proporcionar meios para o desenho racional de fármacos para o tratamento.

7. Referências Bibliográficas

- AICHELBURG, A. C. et al. Successful treatment of disseminated *Acanthamoeba* sp. infection with miltefosine. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n. 1, p. 1743–1746, 2008.
- AKZOZEK, A. et al. Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cystostophysical, chemical and radiological conditions. **International Journal of Parasitology**, v. 88, n. 1, p. 620–623, 2002.
- ARANCE-GIL, A. et al. Corneal cross-linking for *Acanthamoeba* keratitis in an orthokeratology patient after swimming in contaminated water. **Contact Lens & Anterior Eye**, v. 13, n. 1, p. 313–315, 2013.
- BAKARDJIEV, A. et al. Amoebic encephalitis caused by *Balamuthia mandrillaris*: report of four cases. **The Pediatric Infectious Diseases Journal**, v. 5, n. 1, p. 447–452, 2003.
- BARBOUR, S. E.; MARCIANO-CABRAL, F. *Naegleria fowleri* amoebae express a membrane-associated calcium-independent phospholipase A (2). **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1530, p. 123–133, 2001.
- BARETE, S. et al. Fatal disseminated *Acanthamoeba lenticulata* infection in a heart transplant patient. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 5, p. 736–738, 2007.
- BLOCH, K. C.; SCHUSTER, F. L. Inability to make a pre mortem diagnosis of *Acanthamoeba* species infection in a patient with fatal *Granulomatous amebic encephalitis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 3003–3006, 2005.
- CASTRILLÓN, J. C.; OROZCO, L. P. *Acanthamoeba* spp. as opportunistic pathogens parasites. **Revista Chilena de Infectología**, v. 30, n. 2, p. 147–155, 2013.
- CHAPPELL, C. L. et al. Standardized method of measuring *Acanthamoeba* in sera from healthy human subjects. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 8, n. 1, p. 724–730, 2001.
- CLARKE, D. W.; NIEDERKORN, J. Y. The pathophysiology of *Acanthamoeba* keratitis. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 175–180, 2006.
- DART, J. K. et al. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update 2009. **American Journal of Ophthalmology**, v. 148, n. 1, p. 487–499, 2009.
- DENDENA, F. et al. Free-living amoebae: Detection, morphological and molecular identification of *Acanthamoeba* genus in the hydraulic system of an hemodialysis unit in Tunisia. **Parasite**, v. 15, n. 1, p. 137–142, 2008.
- EISEN, D.; FRANSON, R. C. Acid-active neuraminidases in the growth media from cultures of pathogenic *Naegleria fowleri* and in sonicates of rabbit alveolar macrophages. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 924, n. 2, p. 369–372, 1987.
- FERRANTE, A. Free-living amoebae: pathogenicity and immunity. **Parasite Immunology**, v. 13, n. 1, p. 31–47, 1991.
- FOWLER, M.; CARTER, R. F. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. **British Medical Journal**, v. 2, n. 1, p. 740–742, 1965.
- FRITZINGER, A. E. et al. Identification of a *Naegleria fowleri* Membrane Protein Reactive with Anti-Human CD59 Antibody. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 2, p. 1189–1195, 2006.
- FUKUMA, T. Amebic meningoencephalitis. **Brain and Nerve**, v. 61, n. 2, p. 115–121, 2009.
- GUPTA, N. et al. Primary amoebic meningoencephalitis: first reported case from Rohtak, North India. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 3, p. 236–237, 2009.
- HALLAM, N. B. et al. The potential for biofilm growth in water distribution systems. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4063–4071, 2001.

- HOFFMANN, R.; MICHEL, R. Distribution of free-living amoebae (FLA) during preparation and supply of drinking water. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 203, n. 3, p. 215–219, 2001.
- MATIN, A. et al. *Balamuthia mandrillaris* stimulates interleukin-6 release in primary human brain microvascular cells via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. **Microbes and Infection**, v. 7, n. 1, p. 1345–1351, 2005.
- KHAN, N. A. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 564–595, 2006.
- LEE, Y. J. et al. *Naegleria fowleri* Lysate Induces Strong Cytopathic Effects and Pro-inflammatory Cytokine Release in Rat Microglial Cells. **Korean Journal of Parasitology**, v. 49, n. 3, p. 285–290, 2011.
- LOBO, S. A. et al. Diagnostic challenges in *Balamuthia mandrillaris* infections. **Parasitology Research**, v. 112, n. 12, p. 4015–4019, 2013.
- LORENZO-MORALES, J. et al. *Acanthamoeba* keratitis due to genotype T11 in a rigid gas permeable contact lens wearer in Spain. **Contact Lens & Anterior Eye**, v. 34, n. 1, p. 83–86, 2011.
- LY, T. M. C.; MULLER, H. E. Ingested *Listeria monocytogenes* survive and multiply in protozoa. **Journal of Medical Microbiology**, v. 33, n. 55, p. 51–54, 1990.
- MARTINEZ, A. J. Infection of the central nervous system due to *Acanthamoeba*. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. S399–402, 1991.
- MATIN, A. et al. *Balamuthia mandrillaris* exhibits metallo-proteinase activity. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 83–91, 2006.
- MATIN, A. et al. Increasing importance of *Balamuthia mandrillaris*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 3, p. 435–448, 2008.
- MAZUR, T. et al. The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 46, n. 1, p. 106–108, 1995.
- MOVAHEDI, Z. et al. Primary amoebic meningoencephalitis in an Iranian infant. **Journal of Medical Case Reports**, v. 2012, n. 1, p. 200–204, 2012.
- PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. J. *Acanthamoeba* keratitis: a comprehensive photographic reference of common and uncommon signs. **Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 37, n. 1, p. 232–238, 2009.
- ROSS, J. et al. Clinical characteristics of *Acanthamoeba* keratitis infections in 28 States, 2008 to 2011. **Cornea**, v. 33, n. 2, p. 161–168, 2014.
- SHUSTER, F. L.; VISVESVARA, G. S. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. **The International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 1, p. 1001–1027, 2004.
- SRINIVASAN, M. S. et al. Distinguishing infective versus noninfective keratitis. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 56, n. 3, p. 203–207, 2008.
- SZENTMÁRY, N. et al. *Acanthamoeba* Keratitis. **Der Ophthalmologe**, v. 110, n. 12, p. 1203–1211, 2013.
- SWANSON, M. S.; HAMMER, B. K. *Legionella pneumophila* pathogenesis; a fateful journey from amoebae to macrophage. **Annual Review of Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 567–613, 2000.
- THOM, S. et al. Association of *Vibrio cholera* with fresh water amoebae. **Journal of Medical Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 303–306, 1992.
- TRABELSI, H. et al. Free-living amoebae (FLA): morphological and molecular identification of *Acanthamoeba* in dental unit water. **Parasite**, v. 17, n. 1, p. 67–70, 2010.
- TRABELSI, H. et al. Pathogenic free-living amoebae: epidemiology and clinical review. **Pathologie Biologie**, v. 60, n. 6, p. 399–405, 2012.
- VISVESVARA, G. S.; MAGUIRE, J. H. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. **Tropical Infectious Diseases**, v. 2, n. 1, p. 1114–1125, 2006.
- VISVESVARA, G. S.; MOURA, H.; SCHUSTER, F. L. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 1–26, 2007.
- ZAHEER, R. *Naegleria fowleri* – the brain-eating amoeba. **Journal Pakistan Medical Association**, v. 63, n. 11, p. 1456–1457, 2013.